

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- R. ALIFAX. — Utilisation du monolaurate de Sorbitol comme agent émulsionnant des graisses dans les milieux destinés à la recherche des microorganismes lipolytiques. 129
- A. H. WHITE, R. R. RIEL, D. M. BEATTIE, K. N. SMITH et W. A. MCGUGAN. — Etudes sur l'absence de lavage du beurre 135
- R. ALIFAX et Marie BEJAMBES. — Dosage simultané du fer et du cuivre dans le lait et les produits laitiers 146
- REVUE :
- G. GÉNIN. — Le lait dans le monde 160

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 172
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 181

Bulletin bibliographique :

- 1^o Les livres 219
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 220
- 3^o Les brevets 233

Documents et informations :

- La mise à l'épreuve des animaux reproducteurs 235
- Production ovine 236
- Une « fabrique de lait » en Suède 238
- Production et vente du fromage en Hollande en 1957 238
- Exportation du fromage danois 239
- Consommation de la margarine en 1956 239
- Une couche protectrice sur les bouteilles de lait en réduit le bris 240
- 21^e Exposition des Industries de la Laiterie 240
- École de laiterie de Nancy 240

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

UTILISATION DU MONOLAURATE DE SORBITOL COMME AGENT ÉMULSIONNANT DES GRAISSES DANS LES MILIEUX DESTINÉS A LA RECHERCHE DES MICROORGANISMES LIPOLYTIQUES

par

R. ALIFAX

I. — Introduction

Pour observer le comportement d'un germe microbien, vis-à-vis d'une substance donnée, il faut que celle-ci se trouve dans le milieu de culture soit en solution, soit dans un état de dispersion tel qu'elle

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

soit attaquable par les enzymes microbiens. S'il est relativement facile d'étudier le métabolisme de substances solubles comme les glucides ou les acides aminés et d'apprécier ainsi la fermentation d'un sucre ou l'action d'une désaminase, il n'en est pas de même dans le cas des substances grasses.

L'insolubilité dans l'eau des matières grasses a conduit à l'utilisation comme substrat, pour l'étude de la lipolyse, de quelques esters solubles d'acides gras : tributyrine, triacétine, butyrate de méthyle.

Mais rien ne permet d'affirmer que les diastases capables de libérer des acides gras à bas poids moléculaire peuvent hydrolyser les matières grasses. Même si le substrat était constitué par des esters d'acides gras à chaîne plus longue on ne pourrait pas en tirer de conclusion certaine. La possibilité pour un microorganisme de sécréter une estérase donnée, ne prouve nullement qu'il soit capable de fournir le système lipasique nécessaire pour hydrolyser une matière grasse complexe.

Il est plus rationnel lorsqu'on recherche des germes provoquant la lipolyse d'une matière grasse déterminée, d'offrir cette dernière comme substrat aux germes éventuellement responsables de son altération.

Cette substance grasse devra être amenée à l'état d'émulsion à la fois fine et stable, ce qui nécessite l'emploi d'un agent émulsionnant.

C'est dans ce but que STARR [1] pour émulsionner l'huile de coton, et MORRIS et al. [2] pour étudier l'hydrolyse des graisses par les microbes du genre *Pseudomonas* ont utilisé respectivement la gomme arabique et la lécithine de soja. AUDREY, JONES et RICHARDS [3], dans leur étude sur l'utilisation des dérivés du triphénylméthane (bleu de nuit, bleu Victoria) comme indicateurs de lipolyse, font appel à la gomme adragante.

KLINGE [4] a décrit récemment un milieu dans lequel la matière grasse, en l'espèce l'huile d'olive, est émulsionnée au moyen du monooléate de sorbitol (Tween 80). Il signale une légère inhibition de la production de lipase par certaines bactéries normalement douées de propriétés lipolytiques (*Pseudomonas*).

Mais ainsi que MORRIS et al. l'auteur emploie comme indicateur de réaction le sulfate de bleu de Nil. Or, on sait que ce colorant est toxique pour certains germes gram positifs (Staphylocoques).

Nous avons dit que AUDREY, JONES et RICHARDS utilisent les dérivés du tryphénylméthane. A l'inverse du sulfate de Bleu de Nil, ces colorants ne semblent pas présenter de caractère de toxicité vis-à-vis d'un groupe défini de germes. AUDREY, JONES et RICHARDS

émulsionnent la matière grasse soit par agitation mécanique, soit au moyen de la gomme adragante.

Nous avons cherché à appliquer la technique et la méthode décrites par ces derniers auteurs à l'isolement des microbes lipolytiques du beurre. Mais le souci de nous assurer une meilleure stabilité de la matière grasse, nous a amené à essayer plusieurs agents émulsionnants.

II. — Préparation du milieu

a) *Milieu de base.*

Le milieu de base est celui décrit par AUDREY, JONES et RICHARDS : peptone : 10 grammes ; extrait de levure : 3 grammes ; chlorure de sodium : 5 grammes ; eau : 1.000 millilitres. Le pH est ajusté à 7,8. Le milieu est ensuite gélosé à 2%.

Après filtration du milieu gélosé, on ajoute 10 millilitres d'une solution de bleu Victoria à 1/150. On répartit ensuite en fioles de 150 millilitres, à raison de 90 millilitres par flacon. On stérilise à 120° pendant 20 minutes.

b) *Préparation de l'émulsion.*

La concentration en graisse du milieu décrit par AUDREY, JONES et RICHARDS est de 5%. Cela revient à ajouter à 90 millilitres du milieu de base 10 millilitres d'une émulsion renfermant 5% de graisse.

Pour préparer 100 millilitres d'une telle émulsion, on dissout le corps émulsionnant dans 50 millilitres d'eau distillée chauffée à 60° que l'on verse dans un mélangeur à usage domestique. On y ajoute ensuite 50 millilitres de graisse de beurre, obtenue par fusion, centrifugation et filtration d'un beurre de fabrication récente.

Le batteur de l'appareil tournant à grande vitesse, 3 minutes suffisent pour obtenir une bonne émulsion. Celle-ci est ensuite répartie en tubes à raison de 10 millilitres et stérilisée 20 minutes à 115°.

c) *Mélange.*

A 90 millilitres du milieu de base fondu et ramené à 50°, on ajoute aseptiquement 10 millilitres de l'émulsion préalablement portée à cette température. On agite pendant 1 à 2 minutes et peu à peu le mélange acquiert une teinte rose mauve.

On coule en boîtes de Petri dans lesquelles les dilutions ont été, au préalable, réparties.

III. — Essais de différents agents émulsionnants

Nous avons tout d'abord utilisé la gomme arabique et la gomme adragante. Ces essais n'ont pas été satisfaisants.

Nous avons essayé également la lécithine de soja, et le monolaurate de sorbitol, que nous avons apportés sous forme de produits commerciaux, respectivement dénommés Astec 4135 (1) et Tween 20 (2).

Dans une première série d'essais, nous avons cherché à déterminer la concentration minima en substance émulsionnante, à partir de laquelle l'émulsion demeurerait stable après un passage de 20 minutes à l'autoclave à la température de 115°.

Choix du Tween 20.

Nous avons préféré cependant le Tween 20 à l'Astec pour les raisons suivantes :

a) La stabilité de l'émulsion obtenue après stérilisation à l'autoclave pendant 20 minutes à 115° est meilleure avec le Tween 20 qu'avec l'Astec.

b) La réaction colorée est plus nette. Cela est vraisemblablement dû au fait que le Tween 20 est entièrement soluble alors que l'Astec donne avec l'eau une suspension blanchâtre, laiteuse. Le milieu avec Astec prend après l'addition du colorant, une teinte grisâtre. La coloration bleue indicatrice de la lipolyse est peu nette. Avec le monolaurate de sorbitol on obtient une émulsion qui, avec le colorant, produit un fond de couleur rose-mauve et facilite la numération des germes.

IV. — Le Tween 20 n'est pas inhibiteur

Ayant retenu le Tween 20 comme agent émulsionnant il importait de s'assurer que ce corps ne possédait pas de propriétés inhibitrices vis-à-vis des microorganismes lipolytiques.

Cette vérification a été faite de la manière suivante :

— dans un premier essai, nous avons comparé, à une même dilution, la croissance des microorganismes sur un milieu de référence d'une part et sur le milieu de AUDREY, JONES et RICHARDS additionné de Tween 20 d'autre part,

— dans un deuxième essai, la comparaison a été faite entre le milieu de référence et le milieu tel que nous le proposons, c'est-à-dire avec l'émulsion de matière grasse.

Les microorganismes expérimentés ont été :

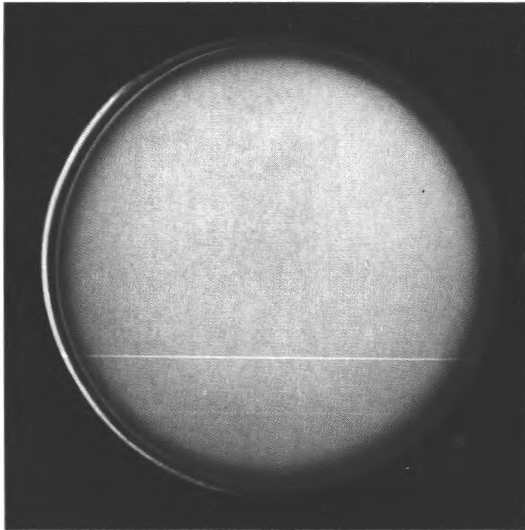
— un Bacille gram négatif (non identifié) ;
 — un Microcoque, appartenant à la série D d'Abd-el-Malek et Gibson [5] (ces deux germes avaient été isolés de deux échantillons de beurre).

— un Penicillium, isolé d'un fromage « bleu d'Auvergne ».

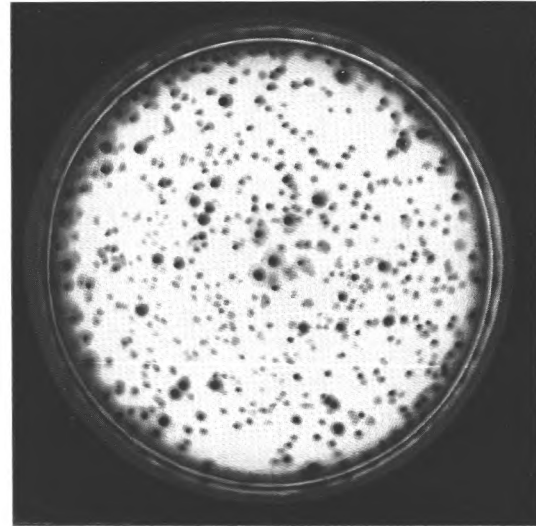
(1) Associated Concentrates Inc. 57.01 32 nd. Avenue Woodside New York (U.S.A.).

(2) Atlas Powder Company, Wilmington 99, Delaware (U.S.A.).

Milieu de AUDREY, JONES & RICHARDS (T) émulsionné du TWEEN 20



non ensemencé



ensemencé par un microcoque lipolytique

On voit que le Tween 20 n'a pas inhibé le développement des microorganismes mis en expérience.

Résumé et conclusions

Pour rechercher l'action lipolytique d'un microorganisme vis-à-vis d'une matière grasse donnée, le mieux est d'introduire cette matière grasse dans le milieu d'isolement.

L'insolubilité des graisses dans l'eau oblige à les émulsionner avant de les incorporer au milieu de culture. La toxicité du sulfate de Bleu de Nil vis-à-vis de certains germes (staphylocoques) nous a amené à adopter le milieu décrit par AUDREY, JONES et RICHARDS, dans lequel l'indicateur de lipolyse est un dérivé du triphénylméthane (bleu de nuit, bleu Victoria). Nous proposons une technique d'émulsion utilisant le monolaurate de sorbitol (Tween 20). Elle permet d'obtenir un milieu dans lequel la matière grasse se trouve à l'état d'émulsion fine et stable. Des essais effectués sur trois types de microorganismes lipolytiques, deux bactéries et une moisissure, ont montré que le Tween 20 ne possédait pas de propriétés inhibitrices vis-à-vis des germes étudiés.

(Station centrale de Microbiologie et Recherches laitières, Jouyen-Josas.)

RÉFÉRENCES

- [1] M. P. STARR. Spirit blue agar. A medium for the detection of lipolytic microorganisms. *Sci.* **93**, 333-334, 1941.
- [2] L. MORRIS, Goldman et MORTON M. RAYMAN. Hydrolysis of fats by bacteria of the *Pseudomonas* genus. *Food. Res.* **17**, 326-337, 1952.
- [3] AUDREY, JONES et RICHARDS. Night blue and Victoria blue as indicators in lipolysis média. *Proc. Soc. appl. bact.*, **5**, 82-93, 1952.
- [4] K. KLINGE. Der Nachweis der Mikrobiellen Fettspaltung mit Nilblau sulfat. *Arch. Hyg. Beirl.*, **140**, 492-498, 1956.
- [5] Y. ABD-EL-MALEK et T. GIBSON. Studies in the bacteriology of milk-II the Staphylococci and micrococci of milk. *J. Dairy Res.*, **15**, 249-260, 1948.
- [6] I. DAVIS. *Milk testing*, 162, 1951.
- [7] British standard methods for the microbiological examination of butter. N° 895, 1940.